

## Copper as water consumption enhancer during the vase life of *Lilium* 'Elite'

### El cobre como promotor del consumo hídrico durante la vida de florero de *Lilium* 'Elite'

Arriaga-Frias, A.\*, De la Cruz-Guzmán, G.H., Mandujano-Piña, M., González-Moreno, S.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Avenida de los Barrios No.1, Los Reyes Iztacala, C.P. 54090, Tlalnepantla, Estado de México.

#### ABSTRACT

The effect of copper chloride at 0, 10, 15, 30 and 60  $\mu\text{M}$  in fresh weight, water consumption, chlorophyll concentration and vase life of *Lilium* 'Elite' was evaluated. In all treatments 4 % of sucrose was added and the pH adjusted to 3.5 with citric acid. In the results, it was observed that floral stems of *Lilium* with 60  $\mu\text{M}$  copper increased their fresh weight, and inflection point produced a day after compared with other treatments, which indicates the beginning of the weight loss. The water consumption at day 7 was 55, 37 and 21 % higher in the stems of flowers with 60, 30 and 15  $\mu\text{M}$  of copper chloride, respectively, compared with the control. Regardless of the treatment, at day 12, the concentration of chlorophyll a, b and total was five times higher in the upper stratum, as compared to the bottom. A good ornamental appearance of the flowers on the lower stratum ranged from 3.8 to 4.5 days (d), while for the top stratum registered a range between 2.7 to 4.0 d; in the latter, the flower stems treated with 60  $\mu\text{M}$  copper sulfate increased the life of flowers.

#### KEY WORDS

*Lilium longiflorum*, water consumption, fresh weight, chlorophyll concentration, ornamental appearance.

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: March 3<sup>rd</sup> 2014.

Accepted/Aceptado: April 29<sup>th</sup> 2014.

#### RESUMEN

Se evaluó el efecto del cloruro de cobre a los 0, 10, 15, 30 y 60  $\mu\text{M}$  en el peso fresco, el consumo de agua, concentración de clorofila y la vida en florero de *Lilium* 'Elite'. En todos los tratamientos se añadió 4 % de sacarosa y el pH se ajustó a 3.5 con ácido cítrico. En los resultados se observó que los tallos florales de *Lilium* con cobre 60  $\mu\text{M}$  aumentaron su peso fresco y punto de inflexión, que indica el comienzo de la pérdida de peso, se produjo un día después en comparación con los otros tratamientos. El consumo de agua en el día 7 fue de 55, 37 y 21 % superior en los tallos de las flores con 60, 30 y 15  $\mu\text{M}$  de cloruro de cobre, respectivamente, en comparación con el testigo. Sin importar el tratamiento, al día 12, la concentración de la clorofila a, b y total fue cinco veces mayor en el estrato superior, en comparación con la parte inferior. El buen aspecto ornamental de las flores en el nivel inferior fluctuó entre 3.8 a 4.5 días (d), mientras que para el estrato superior observó un intervalo entre 2.7 a 4.0 d; en éste último, los tallos florales tratados con 60  $\mu\text{M}$  de sulfato de cobre aumento la vida de las flores.

#### PALABRAS CLAVE

*Lilium longiflorum*, consumo de agua, peso fresco, concentración de clorofila, apariencia ornamental.

#### \*Corresponding Author:

Arriaga Frías Alberto, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Unidad de Morfología y Función, Avenida de los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, C.P. 54090, Tlalnepantla, Estado de México, Phone: +52(55) 5623 1257; Fax +52(55) 5623 1255. E-mail: ixbe@unam.mx

## Introduction

The development of chlorosis in the leaves of *Lilium* (*Lilium longiflorum* Tumb) is a physiological disorder that appears when the stems are put in a vase (Fuentes, 2009). In general, yellowness in cut flowers has been related to the diminishing of water flow, the presence of heavy metals, such as copper, in the solution of the vase and the substitution of magnesium atoms for copper atoms in the chlorophyll molecules provoking interruption of photosynthesis. In this sense, it has been reported that in light conditions, such substitution is lower at 2 %, while in shadow conditions, it is almost total (Kupper *et al.*, 1998).

Because of its antimicrobial action, copper is used to enhance the water flow in the vase solution (Halevy and Mayak, 1981) despite the fact it provokes yellowing in the *Lilium* leaves. It is due to the fact that divalent cations raise the water flow in the flower stems (van Doorn *et al.*, 2012). On the other hand, cobalt chloride has been reported to be an absorption improver in the stems of *Lilium* 'Starfighter' and 'Stargazer' (Mandujano *et al.*, 2012), while concentrations of copper sulfate of 100 and 150 mg L<sup>-1</sup> increase the fresh weight during the vase life of *Eustoma* 'blue' (Hojatti *et al.*, 2007).

Hydraulic conductivity has a positive relation with the hydration of the stems and floral longevity (van Doorn, 2012). When the floral stems are put in a solution, they increase their fresh weight during the first 3 days, and after it diminishes significantly (Lu *et al.*, 2010; Alaey *et al.*, 2011); furthermore, during such weight increase, those floral stems that hold them longer will accomplish a longer vase life (Ichimura and Shimizu-Yumoto, 2007).

It has been reported that fresh weight of the chrysanthemums 'Cassa' floral stems diminishes when they are put in deionized water, in contrast with those that are put in normal tap water, due mainly to the presence of cations such as calcium and copper (Meeteren *et al.*, 2001).

Copper has a double function in the *Lilium* stems, in one hand, it raises the hydric flow due to its bactericide action (Halevy and Mayak, 1981), and on the other, it could induce chlorosis in the foliage if applied in high concentrations (Küpper *et al.*, 1998). Hence, the aim of this study was to evaluate the effect of different copper chloride solutions (0, 10, 15, 30 y 60 µM) over fresh

## Introducción

El desarrollo de clorosis en las hojas de *Lilium* (*Lilium longiflorum* Tumb) es un desorden fisiológico que se presenta cuando los tallos se colocan en el florero (Fuentes, 2009). En general, el amarillamiento en flores de corte se ha asociado a la disminución del flujo de agua, a la presencia de metales pesados, tales como el cobre, en la solución del florero y a la sustitución de los átomos de magnesio por átomos de cobre en las moléculas de clorofila provocando así la interrupción de la fotosíntesis. En este sentido, se ha reportado que en condiciones de luz, esta sustitución es menor al 2 %, mientras que en condiciones de sombra, la sustitución es casi total (Kupper *et al.*, 1998).

Por su acción antimicrobiana, el cobre se utiliza para mejorar el flujo de agua en la solución del florero (Halevy y Mayak, 1981) a pesar de que provoca amarillamiento en las hojas del *Lilium*; la razón es que los cationes divalentes aumentan el flujo de agua en los tallos florales (van Doorn *et al.*, 2012). Por otra parte, el cloruro de cobalto se ha reportado que mejora la absorción en los tallos de *Lilium* 'Starfighter' y 'Stargazer' (Mandujano *et al.*, 2012), mientras que concentraciones de sulfato de cobre de 100 y 150 mg L<sup>-1</sup> incrementan el peso fresco durante la vida de florero de *Eustoma* 'blue' (Hojatti *et al.*, 2007).

La conductividad hidráulica tiene una relación positiva con la hidratación de los tallos y con la longevidad floral (van Doorn, 2012). Cuando los tallos florales se colocan en una solución, durante los primeros 3 días incrementan su peso fresco y después lo disminuyen de forma significativa (Lu *et al.*, 2010; Alaey *et al.*, 2011); además, durante este incremento de peso aquellos tallos florales que lo sostienen por más tiempo, lograrán una vida de florero mayor (Ichimura y Shimizu-Yumoto, 2007).

Se ha reportado que el peso fresco de los tallos florales de crisantemo 'Cassa', disminuye cuando se colocan en agua desionizada, en comparación con los que se colocan en agua corriente de la llave, debido principalmente a la presencia de cationes como calcio y cobre (Meeteren *et al.*, 2001).

El cobre tiene doble función en los tallos de *Lilium*, por un lado, aumenta el flujo hídrico debido a su acción bactericida (Halevy y Mayak, 1981), por otro, podría inducir clorosis en el follaje si se aplica en altas concentraciones (Küpper *et al.*, 1998). Por lo que, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintas soluciones de cloruro de cobre (0, 10, 15,

weight and development of chlorosis in the vase life of *Lilium longiflorum* 'Elite'.

## Materials and Methods

Floral stems of *Lilium* 'Elite' were gathered in Villa Guerrero, Estado de Mexico. They were transported dry to the vegetal ecophysiology lab of the FES-Iztacala, UNAM, where they were cut in order to make them uniform with a final length of 70 cm. After that, they were introduced in deionized water at room temperature ( $20 \pm 4$  °C) during two hours. Taking as reference the initial weight, stems which variation coefficient did not exceed 15 % and they were introduced in test tubes that contained 170 mL of each of the next solutions: copper chloride 0, 10, 15, 30 y 60  $\mu\text{M}$ . The experiment was made with 12 h of photoperiod, temperature  $20 \pm 4$  °C, relative humidity between 40 and 60 % and a photosynthetically active radiation of  $10 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$  emitted by fluorescent lamps measured with a radiometer (Hansatech Quantum sensor).

The treatment design was randomized, where the experimental unit was represented by a floral stem of *Lilium* 'Elite' inside a 250 mL test tube with an initial volume of 170 mL of each solution. Every treatment had eight repetitions. In all cases, a sucrose solution at 4 % (Armecca) was added and pH was adjusted at 3.5 with citric acid (Meyer® Chemistry).

In order to evaluate vase life, a hedonic scale was made (Walton *et al.*, 2010; Harkema *et al.*, 2013), which define criteria of flower stages. Stage 0, straight and compact closed green-colored bud, tepals joint in their apical portion. Stage 1, straight and compact closed orange-toned bud, tepals slightly separated in their apical portion. Stage 2, open flower with spread tepals with light orange tones with anther exposition. Stage 3, flower at its maximum opening with an intense orange coloration considered as the optimal ornamental point. Stage 4, curvature in apical portion of tepals with start of loss of turgidity. Stage 5, major curvature of tepals and increase in the turgidity loss; this stage was considered as the end of vase life, apart from other senescence symptoms, such as foliage withering and pedicel folding (Teixeira, 2003).

30 y 60  $\mu\text{M}$ ) sobre el peso fresco y desarrollo de clorosis en la vida en florero de *Lilium longiflorum* 'Elite'.

## Materiales y Métodos

Tallos florales de *Lilium* 'Elite' se obtuvieron en Villa Guerrero, Estado de México, fueron transportados en seco al laboratorio de ecofisiología vegetal de la FES-Iztacala, UNAM, donde se recortaron para uniformarlos a una longitud final de 70 cm. Posteriormente se introdujeron en agua desionizada a temperatura ambiente ( $20 \pm 4$  °C) durante dos horas. Tomando como referencia el peso inicial, se seleccionaron los tallos cuyo coeficiente de variación no sobrepasara 15 % y se introdujeron en probetas que contenían 170 mL de cada una de las siguientes soluciones de cloruro de cobre 0, 10, 15, 30 y 60  $\mu\text{M}$ . El experimento se realizó con 12 h de fotoperiodo, temperatura de  $20 \pm 4$  °C, humedad relativa entre 40 y 60 % y una radiación fotosintéticamente activa de  $10 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$  emitida por lámparas fluorescentes medida con un radiómetro (Hansatech Quantum sensor).

El diseño de tratamientos fue completamente al azar, donde la unidad experimental estuvo representada por un tallo floral de *Lilium* 'Elite' dentro de una probeta de 250 mL con un volumen inicial de 170 mL de cada solución. Cada tratamiento tuvo ocho repeticiones. En todos los casos se adicionó una solución de sacarosa al 4 % (Armecca) y el pH se ajustó a 3.5 con ácido cítrico (Química Meyer®).

Para evaluar la vida en florero, se construyó una escala hedónica (Walton *et al.*, 2010; Harkema *et al.*, 2013) que definió criterios de estadios florales. Estadio 0, botón cerrado compacto y firme con coloración verde, tépalos unidos en su porción apical. Estadio 1, botón cerrado compacto y firme con tonos naranjas, tépalos ligeramente separados en su porción apical. Estadio 2, flor abierta con tépalos desplegados con tonalidad naranja tenue con exposición de anteras. Estadio 3, flor con su máxima apertura con una coloración naranja intensa considerada como el punto óptimo ornamental. Estadio 4, curvatura en la porción apical de los tépalos con inicio de pérdida de turgencia. Estadio 5, mayor curvatura de tépalos e incremento de pérdida de turgencia, a este estadio se le consideró como el fin de la vida en florero, además de otros síntomas de senescencia como el marchitamiento del follaje y doblamiento del pedicelo (Teixeira, 2003).

**Evaluated variables were:**

a) Water consumption, by difference of volume in the graduated test tube, raising the stem to rest volume it displaced.

b) Fresh weight, with a digital scale (Velab ES-1000Hm 100 g X 0.01) with 0.01 g precision, taking the stem out and returning it to the test tube after weighting.

c) Vase life, by hedonic scale comparison in the inferior (flowers 1-4 in acropetal direction) and superior (flower 5 and ahead in the same direction) stratum.

d) Ornamental appearance defined as the day in which the major number of open flowers in inflorescence was simultaneously observed.

e) Inflexion Point of loss weight. With the making of a polynomial regression of second order.

f) Chlorophyll a, b and total chlorophyll concentrations (Wellburn, 1994) in the leaves of upper stratum and inferior of floral stem were measured on the twelfth day in the vase.

The variety analysis and average comparisons of LSD ( $p \leq 0.05$ ) were performed with the statistical package SAS® v 9.0 for Windows (Castillo, 2011).

**Las variables evaluadas fueron:**

a) Consumo hídrico, por diferencia de volumen en la probeta graduada, levantando el tallo para restar el volumen que este desplazaba.

b) Peso fresco, con una balanza digital (Velab ES-1000Hm 100 g X 0.01) con precisión de 0.01g, sacando el tallo y devolviéndolo a la probeta después de pesarlo.

c) Vida de florero, por comparación con la escala hedónica, en los estratos inferior (flores 1-4 en dirección acrópetala) y superior (flor 5 en adelante en la misma dirección).

d) Apariencia ornamental, definida como el día en que se observó simultáneamente el mayor número de flores abiertas en la inflorescencia.

e) Punto de inflexión de la pérdida de peso. Con la realización de una regresión polinomial de segundo orden.

f) Medición de la concentración de clorofila a, b y total (Wellburn, 1994) en las hojas de los estratos superior e inferior del tallo floral, al doceavo día de florero.

El análisis de varianza y las comparaciones de medias de LSD ( $p \leq 0.05$ ) se realizaron con el paquete estadístico SAS® v 9.0 para Windows (Castillo, 2011).

**Results and Discussion****Water consumption**

Floral stems of *Lilium* treated with 30  $\mu\text{M}$  of copper chloride showed significantly higher water consumption in comparison to the control group between the fifth and tenth day (excepting day eight). The stems with 60  $\mu\text{M}$  of copper showed higher water consumption in comparison to the control group from the first to the tenth day, while regarding the other treatments from day four (Table 1).

**Resultados y Discusión****Consumo hídrico**

Los tallos florales de *Lilium* tratados con 30  $\mu\text{M}$  de cloruro de cobre, mostraron un consumo hídrico significativamente mayor respecto al testigo entre el quinto y décimo día (teniendo como excepción el octavo día). Respecto a los tallos con 60  $\mu\text{M}$  de cobre, mostraron un consumo hídrico mayor respecto al testigo desde el primero al décimo día, mientras que respecto a los demás tratamientos desde el cuarto día (Tabla 1).

**Table 1.**  
**Water consumption during vase life (days) of *Lilium* 'Elite'**

**Tabla 1.**  
**Consumo de agua durante la vida de florero (días) de *Lilium* 'Elite'**

Copper Concentration ( $\mu\text{M}$ )	Water consumption (mL) during base life (days)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	33.13 <sup>b</sup>	18.29 <sup>b</sup>	25.43 <sup>b,c</sup>	20.86 <sup>b,c</sup>	17.14 <sup>c</sup>	8.00 <sup>d</sup>	9.71 <sup>c,d</sup>	8.86 <sup>b</sup>	10.29 <sup>c</sup>	11.14 <sup>c</sup>
10	32.29 <sup>b</sup>	16.57 <sup>b</sup>	20.86 <sup>c</sup>	16.86 <sup>c</sup>	16.86 <sup>c</sup>	9.43 <sup>c,d</sup>	8.00 <sup>d</sup>	12.00 <sup>b</sup>	11.71 <sup>c</sup>	15.14 <sup>b,c</sup>
15	32.30 <sup>a,b</sup>	18.29 <sup>b</sup>	24.29 <sup>c</sup>	17.14 <sup>c</sup>	19.14 <sup>c</sup>	13.43 <sup>c</sup>	12.29 <sup>b,c</sup>	11.14 <sup>b</sup>	11.43 <sup>c</sup>	13.14 <sup>b,c</sup>
30	36.57 <sup>a,b</sup>	21.71 <sup>a</sup>	30.00 <sup>a,b</sup>	27.43 <sup>b</sup>	24.86 <sup>b</sup>	18.57 <sup>b</sup>	15.43 <sup>b</sup>	11.14 <sup>b</sup>	16.57 <sup>a</sup>	16.00 <sup>b</sup>
60	38.00 <sup>a</sup>	22.00 <sup>a</sup>	35.43 <sup>a</sup>	36.57 <sup>a</sup>	36.86 <sup>a</sup>	24.57 <sup>a</sup>	21.71 <sup>a</sup>	22.29 <sup>a</sup>	24.86 <sup>a</sup>	21.14 <sup>a</sup>
DMS	4.38	3.10	5.57	7.83	5.11	4.91	3.34	4.95	4.72	4.76

Averages followed by different letters in each column indicate significant differences (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, minimum significant difference. Medias seguidas de letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, diferencia mínima significativa.

These results suggest that higher copper concentration stimulated the water flow. Meeteren *et al.*, (2001) state that the application of solutions enriched with cations, no matter their valence, increases water consumption in Bouvardia and chrysanthemum. Cobalt also increases water consumption in *Lilium* 'Starfighter' and 'Stargazer' *et al.*, (2012). Possible explanation of this effect focuses on the role of cations such as  $K^+$  and  $Ca^{2+}$  as change in the hydric behavior originators by associating them with pectic components in the wall at the level of lateral interconnections of the xylem vessels. The associations of these cations with the negative charges of the carboxyl groups in the membrane pits, diminishes water flow resistance and favors hydration (Cochard, 2010; Gortan, 2011).

In this research, it was observed that *Lilium* floral stems treated with 60  $\mu M$  of copper kept higher water consumption with respect to the stems of the other treatments during the whole evaluation period, which indicates that copper can have a similar effect that calcium and potassium have on hydric conductivity.

#### Fresh weight

From the fifth day, fresh weight was notably higher in the floral stems treated with 60  $\mu M$  and 10  $\mu M$  of copper.

With the polynomial of second grade model, the effect of copper concentrations over the weight gain and inflection point (beginning of loss weight) was determined. The stems with 60  $\mu M$  of copper delayed the weight loss until day 7.3, while the ones that were kept with 30, 15, 10 and 0  $\mu M$  of copper chloride, their inflection point occurred in the 6.6, 6.3, 5.9 and 5.9 days respectively (Figure 1).

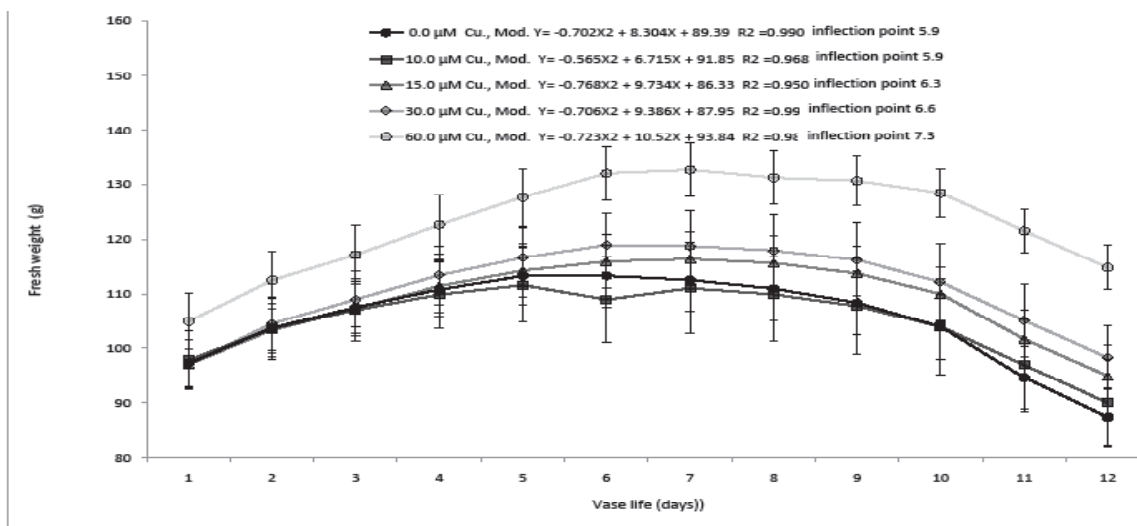
Estos resultados sugieren que la concentración más alta de cobre estimuló el flujo hídrico. Meeteren *et al.*, (2001) mencionan que la aplicación de soluciones enriquecidas con cationes, sin importar su valencia, incrementan el consumo de agua en Bouvardia y crisantemo. El cobalto también incrementa el consumo de agua en tallos de *Lilium* 'Starfighter' y 'Stargazer' (Mandujano *et al.*, 2012). La posible explicación de este efecto se enfoca al papel de cationes como el  $K^+$  y  $Ca^{2+}$  como causantes de cambios en la conductancia hídrica al asociarse con componentes pécticos de la pared a nivel de las interconexiones laterales de los vasos del xilema. La asociación de estos cationes con las cargas negativas de los grupos carboxilos en las punteaduras de membrana, disminuye la resistencia al flujo del agua y favorece la hidratación (Cochard, 2010; Gortan, 2011).

En esta investigación se observó que los tallos florales de *Lilium* tratados con 60  $\mu M$  de cobre mantuvieron mayor consumo hídrico con respecto a los tallos de los otros tratamientos durante todo el periodo de evaluación, esto indica que el cobre puede tener un efecto similar al que tienen el calcio y el potasio, sobre la conductividad hídrica.

#### Peso fresco

A partir del quinto día, el peso fresco fue significativamente mayor en los tallos florales tratados con 60  $\mu M$  de cobre comparados con los tallos del testigo y 10  $\mu M$  de cobre.

Con la función polinomial de segundo grado se determinó el efecto de las concentraciones de cobre sobre la ganancia de peso y el punto de inflexión (inicio de la pérdida de peso). Los tallos con 60  $\mu M$  de cobre retrasaron la pérdida de peso hasta el día 7.3, mientras que los que se mantuvieron con 30, 15, 10 y 0  $\mu M$  de cloruro de cobre sus puntos de inflexión ocurrieron en los días 6.6, 6.3, 5.9 y 5.9 respectivamente (Figura 1).



**Figure 1.** Fresh weight during vase life of *Lilium* 'Elite' with different copper concentrations. Models indicate the inflection point (beginning of weight loss) for each treatment. Each point represents the average of 8 repetitions  $\pm$  standard error.

**Figura 1.** Peso fresco durante la vida en florero de *Lilium* 'Elite' con diferentes concentraciones de cobre. Los modelos indican el punto de inflexión (inicio de la pérdida de peso) para cada tratamiento. Cada punto representa el promedio de 8 repeticiones  $\pm$  error estándar.

The minor weight loss rate is related with a better flower opening and major vase life (Fanourakis *et al.*, 2012; Fanourakis *et al.*, 2013). In this study, a direct relation was observed between the inflection point and copper concentrations, standing out significantly the treated floral stems with 60  $\mu\text{M}$ , which suggests that this copper concentration had the major stimulating effect on water flow and favored the hydration of the floral unit of *Lilium*.

#### Chlorophyll concentration on day twelve

Foliar chlorosis pattern in *Lilium* 'Elite' is acropetal, meaning that it appears first in the inferior leaves and progressively advances to the superior ones, this affects ornamental appearance of the flower and diminishes its quality, specially, if it is present during the first days of vase life. In this study, chlorophyll concentration in the upper stratum leaves of the stem was five times higher compared to the bottom stratum ones, for all chlorophyll a, b and total (Table 2).

La menor tasa de pérdida de peso se relaciona con una mejor apertura de la flor y mayor vida de florero (Fanourakis *et al.*, 2012; Fanourakis *et al.*, 2013). En el presente estudio, se observó una relación directa entre el punto de inflexión y las concentraciones de cobre, destacando de manera significativa los tallos florales tratados con 60  $\mu\text{M}$ , lo cual sugiere que esta concentración de cobre tuvo el mayor efecto estimulador al flujo de agua y favoreció la hidratación de la unidad floral de *Lilium*.

#### Concentración de clorofila al doceavo día

El patrón de clorosis foliar en *Lilium* 'Elite' es de tipo acropétalo, es decir; aparece primero en las hojas inferiores y avanza progresivamente hacia las superiores, esto afecta la apariencia ornamental de la flor y disminuye su calidad sobre todo, si se presenta durante los primeros días de vida en florero. En el presente trabajo, la concentración de clorofila en las hojas del estrato superior del tallo fue cinco veces mayor con respecto a las del estrato inferior, tanto para clorofila a, b y total (Tabla 2).

**Table 2.**  
**Chlorophyll concentration (a, b and total) in the superior and inferior leaves of *Lilium* 'Elite' to day 12.**

**Tabla 2.**  
**Concentración de clorofila (a, b y total) en las hojas superiores e inferiores de *Lilium* 'Elite' al día 12.**

Leafs	Chlorophyll concentration ( $\text{mg mL}^{-1} \text{cm}^2$ )		
	a	b	Total
Superiors	19.32 <sup>a</sup>	6.02 <sup>a</sup>	25.34 <sup>a</sup>
Inferiors	3.75 <sup>b</sup>	1.15 <sup>b</sup>	4.90 <sup>b</sup>
DMS	1.55	0.46	1.99

Averages followed by different letters in each column indicate significant differences (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, minimum significant difference.

Las medias seguidas de letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, diferencia mínima significativa.

By comparing chlorophyll concentration in the upper stratum with the different treatments in the floral stems, 15  $\mu\text{M}$  copper chloride concentration presented major chlorophyll concentration a, b and total in comparison to the other treatments where 60  $\mu\text{M}$  of copper chloride showed the lowest concentration of chlorophyll (Table 3).

Physiological processes that contribute to the stem chlorosis and diminish the quality of the flower were not activated in the superior leaves of *Lilium*, which represents an advantage, since foliar chlorosis in *Lilium* deteriorates the quality of the floral stem (Fuentes, 2009), even when more than 50 % of the flowers are found in the optimal ornamental point or stage 3 in the hedonic scale described before.

Al comparar la concentración de clorofila, en el estrato superior, con los distintos tratamientos de los tallos florales, la concentración de 15  $\mu\text{M}$  de cloruro de cobre presentó la mayor concentración de clorofila a, b y total comparada con los otros tratamientos donde 60  $\mu\text{M}$  de cloruro de cobre mostró la más baja concentración de clorofila (Tabla 3).

Los procesos fisiológicos que contribuyen a la clorosis del tallo y que disminuyen la calidad de la flor no se activaron en las hojas superiores de *Lilium*, lo cual representa una ventaja ya que la clorosis foliar en *Lilium* deteriora la calidad del tallo floral (Fuentes, 2009), aun cuando más del 50 % de las flores se encuentren en el punto óptimo ornamental o estadio 3 de la escala hedónica antes descrita.

**Table 3.**  
Chlorophyll concentration, up to day 12, in the upper stratum leaves of *Lilium* 'Elite', with different copper concentrations.

**Tabla 3.**  
Concentración de clorofila, al día 12, en las hojas del estrato superior de *Lilium* 'Elite' con diferentes concentraciones de cobre.

Copper Concentration ( $\mu\text{M}$ )	Chlorophyll concentration in $\text{mg mL}^{-1} \text{cm}^2$		
	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll
0	10.82 <sup>b,c</sup>	3.61 <sup>a,b</sup>	14.42 <sup>b,c</sup>
10	10.87 <sup>b,c</sup>	3.38 <sup>b,c</sup>	14.26 <sup>b,c</sup>
15	14.15 <sup>a</sup>	4.29 <sup>a</sup>	18.44 <sup>a</sup>
30	12.96 <sup>a,b</sup>	3.90 <sup>a,b</sup>	16.86 <sup>a,b</sup>
60	8.85 <sup>c</sup>	2.76 <sup>c</sup>	11.61 <sup>c</sup>
DMS	2.45	0.74	3.16

Averages followed by different letters in each column indicate significant differences (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, minimum significant difference.

Las medias seguidas de letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, diferencia mínima significativa.

#### Longevity by floral stratum

In flowers of the bottom stratum, their vase life was significantly higher compared to the ones of the upper stratum. Flower lasted from 2.7 to 4.0 d in the latter, while in the bottom stratum, flowers life was of 3.8 to 4.4 days. Meanwhile, the duration of the flowers within each stratum and treatment, according to the average comparison (LSD) showed that only the treatment with 60  $\mu\text{M}$  of copper chloride (4.0 d) in the upper stratum was differentiated from the control (2.7 d), apart from being the only one that did not show differences with the bottom stratum (Table 4).

#### Longevidad por estratos florales

En las flores del estrato inferior su vida en florero fue significativamente mayor con respecto a las del estrato superior. En este último, las flores duraron de 2.7 a 4.0 d, mientras que en el estrato inferior, la vida de las flores fue de 3.8 a 4.4 días. A su vez, la duración de las flores dentro de cada estrato y tratamiento, de acuerdo a la comparación de medias (LSD) mostró que solo el tratamiento con 60  $\mu\text{M}$  de cloruro de cobre (4.0 d) en el estrato superior se diferenció del testigo (2.7 d) además de ser el único que no mostró diferencias con el estrato inferior (Tabla 4).

**Table 4.**  
Longevity of flowers in the superior and inferior stratum of *Lilium* 'Elite'.

**Tabla 4.**  
Longevidad de las flores en los estratos superior e inferior de *Lilium* 'Elite'.

Stratum	Treatment $\mu\text{M}$ of Cu	Vase Life (days)
Inferiors	0	4.4 <sup>a,b</sup>
	10	3.8 <sup>b,c</sup>
	15	4.5 <sup>a</sup>
	30	4.3 <sup>a,b</sup>
	60	4.3 <sup>a,b</sup>
	0	2.7 <sup>e</sup>
Superiors	10	3.4 <sup>c,d</sup>
	15	3.3 <sup>c,d,e</sup>
	30	3.2 <sup>d,e</sup>
	60	4.0 <sup>a,b</sup>
DMS		0.59

Averages followed by different letters in each column indicate significant differences (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, minimum significant difference.

Las medias seguidas de letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, diferencia mínima significativa.

The opening of the flowers from the stratum II in the final phase of vase life means that the hydric flow is interrupted but not to the point that it makes flowers hydration difficult, it was besides manifested that this treatment works, since major vase life was obtained.

All previously said is proven in the fact that stems with 60  $\mu\text{M}$  of copper kept a significantly higher water flow in comparison to the rest of the treatments. In Asian hybrids of *Lilium* there is a negative correlation between longevity of individual flowers and the number of buds by inflorescence (van der Meulen, et al., 2001). Flowers that open lately compete in disadvantage for the absorption of water to the ones that opened before and that still have good ornamental appearance. This can explain the major longevity in the upper stratum of the stems with 60  $\mu\text{M}$  of copper chloride.

#### Ornamental appearance

The analysis of the number of simultaneously opened flowers between copper treatments and control group (Table 5) did not show significant differences ( $p > 0.05$ ), These results could mean that the role of copper as enhancer of water flow does not influence on the opening pattern of flowers and, therefore, the ornamental appearance did not show differences by maintaining a similar proportion of stages 2 and 3 of the hedonic scale.

In conclusion, the results that were found in this study support the hypothesis that the supplying of solutions enriched with copper in low concentrations (60  $\mu\text{M}$ ) stimulate the hydric flow, delays weight loss and life of flowers in the upper stratum of stems of *Lilium*. On the other hand, concentrations of copper chloride used in this study do not influence the physiognomic appearance.

La apertura de las flores del estrato II en la fase final de la vida de florero, significa que el flujo hídrico se interrumpe pero no a tal grado que dificulte la hidratación de las flores, además quedo de manifiesto que este tratamiento funciona ya que se obtuvo una mayor vida de florero

Lo anterior se sustenta en el hecho de que los tallos con 60  $\mu\text{M}$  de cobre mantuvieron un flujo de agua significativamente superior al resto de los tratamientos. En híbridos asiáticos de *Lilium* existe una correlación negativa entre la longevidad de las flores individuales y el número de yemas por inflorescencia (van der Meulen, et al., 2001). Las flores que abren más tardíamente, compiten en desventaja por la absorción de agua con las que abrieron previamente y que aun tienen una buena apariencia ornamental. Esto puede explicar la mayor longevidad en el estrato superior de los tallos con 60  $\mu\text{M}$  de cloruro de cobre.

#### Apariencia ornamental

El análisis del número de flores abiertas simultáneamente entre los tratamientos de cobre y el testigo (Tabla 5) no mostró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). Estos resultados encontrados podrían significar que el papel del cobre como activador del flujo de agua no influye sobre el patrón de apertura de las flores y, por ello, la apariencia ornamental no mostró diferencias al mantener una proporción similar de los estadios 2 y 3 de la escala hedónica.

En conclusión, Los resultados encontrados en este estudio apoyan la hipótesis que el suministro de soluciones enriquecidas con cobre en bajas concentraciones (60  $\mu\text{M}$ ) estimula el flujo hídrico, retrasa la pérdida de peso y la vida de las flores en el estrato superior de tallos de *Lilium*. Por otra parte, Las concentraciones de cloruro de cobre utilizadas en este estudio no influyen en la apariencia fisiológica.

**Table 5.**  
**Ornamental appearance (average of flowers opened simultaneously).**  
**Tabla 5.**  
**Apariencia ornamental (promedio de flores abiertas simultáneamente).**

Copper Concentrations ( $\mu\text{M}$ )	Average of number of flowers opened simultaneously (Stages 2 and 3 of the hedonic scale)
0	2.4 <sup>a,b</sup>
10	2.2 <sup>a</sup>
15	2.7 <sup>a</sup>
30	2.5 <sup>a,b</sup>
60.0	2.6 <sup>a,b</sup>
DMS	0.43

Averages followed by different letters in each column indicate significant differences (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, minimum significant difference.

Las medias seguidas de letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (LSD,  $p \leq 0.05$ ). DMS, diferencia mínima significativa.



## References

- Alaey, M., Babalar, M., Naderi, R. and Kafi, M. 2011. Effect of pre-and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase-life of rose cut flowers. *Postharvest Biology and Technology* 61: 91-94.
- Fuentes B C A. 2009. Efectividad de la aplicación de Giberelinas 4+7 y benziladenina en la calidad postcosecha de *Lilium*. Tesis de Ingeniero agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santiago de Chile.
- Castillo, M.E.L. 2011. Introducción al SAS® para Windows. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo Estado de México, México. 295 pp.
- Cochard, H., Herbett, E.S., Hernández, E., Hölttä, T. and Mencuccini, M. 2010. The effects of sap ionic composition on xylem vulnerability to cavitation. *Journal of Experimental Botany* 61 suppl 1: 275-285.
- Fanourakis, D., Carvalho, D.R.A., Gitonga, V.W., Heusden, A.W. van Almeida, D.P.F., Heuvelink, E., et al. 2012. Breeding cut roses for better keeping quality: first steps. *Acta Horticulturae* 937: 875-882.
- Fanourakis, D., Pieruschka, R., Savvides, A., Macnish, A.J., Sarlikioti, V. and Woltering, E.J. 2013. Sources of vase life variation in cut roses: a review. *Postharvest Biology and Technology* 78: 1-15.
- Gortan, E., Nardini, A., Salleo, S. and Jansen, S. 2011. Pit membrane chemistry influences the magnitude of ion-mediated enhancement of xylem hydraulic conductance in four Lauraceae species. *Tree Physiology* 31: 48-58.
- Halevy, A.H. and Mayak, S. 1981. Senescence and postharvest physiology of cut flowers. part 2. *Horticultural Review* 3: 59-153.
- Harkema, H., Mensink, M.G.J., Somhorst, D.P.M., Pedreschi, R.P. and Westra, E.H. 2013. Reduction of Botrytis cinerea incidence in cut roses (*Rosa hybrida* L.) during long term transport in dry conditions. *Postharvest Biology and Technology* 76: 135-138.
- Hojjati, Y., Khalighi, A. and Farokhzad, R. 2007. Chemical treatments of *Eustoma* cut flower cultivars for enhanced vase life. *Journal of Agriculture & Social Sciences* 3 suppl 3: 75-78.
- Ichimura, K. and Shimizuko-Yumoto, H. 2007. Extension of the vase life of cut roses by treatment with sucrose before and during simulated transport. *Bull National Institute Florida Science* 7: 17-27.
- Küpper, H., Küpper, F. and Spiller, M. 1998. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. *Photosynthesis Research* 58: 123-133.
- Lu, P., Cao, J., He, S., Liu, J., Li, H., Cheng, G., et al. 2010. Nano-silver pulse treatments improve water relations of cut rose cv. 'Movie' Star flowers. *Postharvest Biology and Technology* 57: 196-202.
- Mandujano, P.M., Colinas, L.M.T., Castillo, G.A.M., Alia, T.I. and Valdez, A.L.A. 2012. Cobalto como retardante de la senescencia de *Lilium* híbrido oriental en postcosecha. Revista Chapingo. *Serie Horticultura* 18 suppl 2: 239-252.
- Meulen-Muisers, J.J.M., van der Oeveren, J.C., van Plas, L.H.W. and van der Tuyl, J.M. van. 2001. Postharvest flower development in Asiatic hybrid lilies as related to tepal carbohydrate status. *Postharvest Biology and Technology* 21: 201-211.
- Meeteren, U. van, Gelder, A. van and Leperen, W. van. 2001. Should we reconsider the use of deionized water as control vase solutions? *Acta Horticulturae* 543: 257-264.
- Teixeira da Silva, J. 2003. The cut flower: postharvest considerations. On line *Journal of Biological Sciences* 3: 406-422.
- Van Doorn, W.G. 2012. Water relations of cut flowers: an update. *Horticultural Reviews* 40: 55-106.
- Walton, E.F., Boldingh, H.L., McLaren, G.F., Williams, M.H. and Jackman, R. 2010. The dynamics of starch and sugar utilization in cut peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) stems during storage and vase life. *Postharvest Biology and Technology* 58: 142-146.
- Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144: 307-313.

**Cite this paper/Como citar este artículo:** Arriaga-Frias, A., De la Cruz-Guzmán, G.H., Mandujano-Piña, M., González-Moreno, S. (2014). Copper as water consumption enhancer during the vase life of *Lilium* 'Elite'. *Revista Bio Ciencias* 3(1): 50-58. <http://editorial.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/118/93>

